

키토산 응용의 문제점 개선방안에 대하여

전동원, 김종준, 전지혜
이화여자대학교 의류직물학과

1. 서론

키토산의 응용분야는 폐수처리에서부터 생체소재에 이르기까지 광범위하다. 또한 전 세계적으로 생산되고 있는 키토산의 종류, 품위도 다양하다. 키토산의 응용분야가 넓어지는 만큼 각각의 응용분야에 적합한 키토산 소재의 필요성은 더욱 절실히 요구되고 있다.

우리 나라 실정에 비추어 볼 때 키토산이 가장 활발히 응용되고 있으며 가시적인 시장규모가 형성되고 있는 분야는 식품산업분야이다. 키토산의 품위 측면에서 볼 때 식품산업에서 사용될 수 있는 키토산의 품위는 대한민국 식품공전과 식품첨가물공전에 규격화되어 있기 때문에 그 적용에서 규격만 준수된다면 문제가 발생되지 않는다.

키토산이 어떻게 산업적 응용의 관심대상이 되었는가를 살펴보는 것은 의미 있는 일로 생각된다. 키토산 관련특허 조사에 의하면 이미 1936년에 섬유와 연관된 다음과 같은 2건의 특허가 발견되고 있다.

- 1) Improvements in Manufacture of Delustred Filament and Film(GB 484,901)
- 2) Adhesive Fabrics(GB 479,111)

키토산의 초기 이용개념은 섬유와 연관된 고분자 재료로 인식되었음이 틀림없는 듯하다. 1940년대 초부터 DuPont이 섬유관련 특허를 출원하기 시작하

는 것으로 보아 역시 고분자 소재로서의 중요성이 인식되고 있었던 것으로 평가된다. 1970년대 말부터 키티탄과 키토산은 생체적합성 소재로 인식되기 시작하여 의용분야에서의 응용이 활발해지고 있다.

인체와 관련된 생체적합성 소재로서의 키티탄/키토산은 식품산업에서와 다른 접근이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 우선 품위측면에서 볼 때 식품공전과 식품첨가물공전에 규격화되어 있는 품위로서는 의용재료로서의 응용이 불가능한 것으로 판단된다. 최근 3~4년 전 키토산의 의학적 응용이 현실화되어 인체, 구체적으로는 장기에 직접 삽입되는 적용이 이루어진 바 있다. 그러나 이때 사용된 키토산이 과연 생체적합성 소재로서 충족하여야 할 여러 요건을 갖추고 있는지에 대해서는 알 수 없다. 단지 우리 나라에는 인체에 적용이 직접적으로 가능한 biomedical grade에 해당하는 키토산의 품위가 아직 결정되지 않고 있는 것이 현실이다. 우리가 키토산이라는 고분자화합물에 대하여 생체적합성 소재로서 인식하고 얼마만큼 충실할 수 있는가에 따라서 의용분야의 발전은 결정되리라 생각된다.

본 고에서는 의용재료로서 키토산을 이용할 때 발생되고 있는 몇 가지 문제점에 대하여 설명하고자 한다. 키토산이 생체적합성 재료로 사용되기 위해서는 그 순도뿐만 아니라 분자량의 크기, 탈아세틸화도, 제조된 후 시간경과에 따른 안정성과 변성정도, 용해성 등이 종합적으로 고려되어야 바람직하다. 이하에서는 발생되고 있는 문제점들과 이들

의 해결방안에 대하여 간단히 설명하기로 한다.

2. 분자량 측정 방법에서의 문제점

일반적인 고분자화합물에서와 마찬가지로 chitosan도 분자량의 크기에 따라서 물리/화학적 특성과 기능성이 현저히 변화되고 있다. 미생물에 대한 항균성과 생체 내에서의 분해능, 그리고 세포증식작용 등에서 분자량의 크기는 절대적인 영향을 미치게 되는 것으로 알려져 있다. 그러나 chitosan의 분자량 측정결과들을 종합적으로 살펴볼 때 개선되어야 할 많은 문제점이 발견되고 있다. 지금까지 발표된 다수의 논문들을 살펴볼 때 chitosan의 분자량 측정에서는 고유점도 측정결과와 Mark-Houwink 식을 연관시켜서 분자량이 측정되고 있음을 볼 수 있다. 점도측정에 의한 chitosan 분자량 크기의 산출은 근본적으로 Lee[1]의 실험결과에 근거를 두고 있다. Lee는 최초로 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값을 각각 0.71, 8.93×10^{-2} 으로 측정하였다. 그 이후 Lee에 의해서 측정된 a값과 K값이 chitosan의 분자량 측정에 사용되어 왔다.

고유점도 측정과정에서 Lee는 분자량이 서로 다른 chitosan들을 얻기 위하여 shearing 공정을 통하여 분자량 분포가 좁게 유지되는 여러 종의 chitosan들을 얻고 있으나 얻어진 chitosan들의 분자량 분포 상태에 대해서는 알 수 없다.

Lee에 의하여 측정된 a값과 K값은 모든 종류의 chitosan 분자량 측정에 일률적으로 적용될 수 없음이 분명하다. Lee의 실험에서는 Mark-Houwink 식의 a값과 K값의 측정을 위하여 사용된 chitosan들의 Degree of Deacetylation(이하 DA로 칭함)이 91%로 한정되어 있을 뿐만 아니라 사용된 chitosan들의 분자량 크기도 명확히 제시되지 않고 있다.

Lee에 의하여 측정된 a값과 K값이 chitosan의 분자량 측정에서 제한을 받을 수밖에 없는 이유는 다음과 같다. chitin과 chitosan을 구분하는 엄격한 기준(물질의 고유한 특성에 의한 구분, 또는 수치상으

로 구분될 수 있는 인자)은 존재치 않고 있다. 통상적으로 pH 4 이하의 산성수용액에서 용해되지 않을 정도로 DA가 낮게 유지되는 경우는 chitin이라 부르고 있는데 이때 DA는 대략 40% 이하로 유지되고 있다. 반면 산성수용액에서 용해될 수 있을 정도로 DA가 상승된 경우는 chitosan이라 부르고 있으며 DA는 대략 60% 이상으로 유지되고 있다. 위에서 보듯이 chitin과 chitosan에서 DA의 크기는 물질을 화학적으로 서로 다르게 구분할 수 있을 정도로 큰 영향력을 발휘하고 있음을 볼 수 있다. 부연하자면, 산성수용액에서 용해 불가능과 용해 가능한 임계점에 해당하는 DA의 크기에 따라서 chitin과 chitosan이 구분되고 있다고 보아도 과언이 아니다.

chitin으로부터 chitosan이 제조되는 조건, 즉 chitin의 탈아세틸화 조건에 따라서 chitosan은 DA가 대략 60%에서 100% 범위까지 변화되고 있다. DA가 변화되면 chitosan 분자 내부에 포함되어 있는 $-NH_2$ 기 함량변화가 뒤따르게 되는데 이에 따라서 chitosan 분자쇄 간의 상호작용, 분자쇄의 conformation, 그리고 산수용액 내에서의 용해성이 광범위하게 변화된다. Lee에 의하여 측정된 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값은 측정에 사용된 chitosan의 DA가 91%로 한정하고 있기 때문에 DA가 91%에서 현저히 벗어나고 있는 chitosan에서는 Lee에 의하여 측정된 a값과 K값이 그대로 사용될 수 없음이 분명하다. 현재까지도 다수의 논문에서 분자량 측정에 사용되고 있는 chitosan의 DA가 밝혀지지 않은 상태에서 Lee에 의하여 측정된 a값과 K값에 의거하여 분자량이 계산되어지고 있는 실정으로서 측정된 chitosan 분자량의 크기에 대하여 의구심을 품지 않을 수 없다.

Wang[2]은 chitosan에 대한 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값의 결정과정에서 연구자마다 그 결과가 서로 달라지고 있음에 주목하였다. a값과 K값을 결정할 때의 주요인자들인 용매의 종류, 온도 등이 서로 동일한 상태에서도 연구자들의 결과가 서로 일치하지 않고 있음을 지적하였다. 이러한 a값

과 K값의 불일치에 대한 근본원인으로서 점도측정에 사용되고 있는 chitosan들의 DA가 서로 일치하지 않고 있음을 지적하고 있다. 그는 chitosan의 DA 변화에 따른 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값의 변화원인을 다음과 같이 설명하고 있다. "chitosan은 산수용액에 용해된 상태에서 고유점도가 측정되어야만 한다. DA가 상승될수록 용해된 chitosan 분자쇄 위에 형성되는 charge density가 상승될 수밖에 없으며 그 결과 coil expansion이 유발되며 연이어 고유점도는 증가될 수밖에 없다." Wang의 지적은 일반 유기용매 속에서 하전을 수반하지 않으면서 용해가 진행되는 여타 유기고분자와 달리 chitosan은 양이온이 형성되는 polyelectrolyte 상태에서 고유점도가 측정되어야만 한다는 특이성과 이 특이성 자체가 또한 DA의 크기에 의하여 부수적으로 영향을 받을 수밖에 없음을 지적한 것으로서 그 의미가 큰 것으로 평가된다.

단분자 상태를 유지하고 있는 일반 유기화합물과 고분자화합물간의 근본적인 차이점은 분자량의 개념이 도입된다는 것이다. 특히 chitosan에서는 DA가 광범위하게 변화되고 있음에도 불구하고 DA의 중요성이 간과된 상태에서 Mark-Houwink 식에 의거하여 분자량이 측정되어온 것이 사실이다. 한 예로서 Dao[3]에 의하여 chitosan에 대한 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값이 각각 0.723, 4.74×10^2 으로 측정된 바 있다. 그러나 Dao는 측정에 사용된 chitosan의 고유한 특성 중의 하나인 DA에 관하여 전혀 언급하지 않고 있기 때문에 그에 의하여 측정되어 얻어진 a값과 K값은 chitosan의 분자량 측정에 일괄적으로 사용되기는 어려운 것으로 사료된다.

그러나 몇몇 연구자들은 Mark-Houwink 식에 의거하여 chitosan의 분자량을 측정할 때 DA의 크기에 따라서 차별화되는 a값과 K값을 적용시킨 예도 발견되고 있다.

Lin[4]은 DA가 82%인 chitosan에 대해서는 $a=0.96$, $K=1.424 \times 10^3$ 을 적용시켰고, DA가 96% 이상으로 유지되는 경우는 $a=0.81$, $K=16.8 \times 10^3$ 을 적용시켰

다. DA값의 차이에 따른 a값과 K값의 차별화 적용은 앞서 Wang이 DA의 변화에 따라서 a값과 K값을 차별화시켜 적용해야만 한다는 원칙을 따르고 있는 것이다. Lin이 적용한 a값과 K값은 Wang이 chitosan의 DA에 따라서 개별적으로 제시한 수치와 일치하고 있음을 볼 수 있다.

Chang[5]도 Mark-Houwink 식을 이용하여 DA가 84%인 chitosan의 분자량을 측정할 때 a값과 K값으로서 각각 0.96, 1.424×10^3 의 수치를 적용하고 있다. Chang이 적용한 a값과 K값은 Wang이 DA가 84%인 chitosan에 대하여 적용시켰던 수치이다. Chang도 특정한 DA가 유지되는 chitosan에서는 특정한 a값과 K값이 적용되어야 한다는 원칙을 따르고 있다.

No[6]는 DA가 각각 78.4, 87.9, 88.1, 88.6, 89.0%로 유지되고 있는 chitosan들에 대하여 Mark-Houwink 식에 의거하여 분자량을 측정하고 있다. 그는 적용되어야 할 a값과 K값으로서 각각 0.93, 1.81×10^3 에 해당하는 값을 적용하고 있다. No는 적용되었던 a값과 K값의 출처를 밝히지 않고 있으나, a값 0.93, K값 1.81×10^3 의 수치는 Roberts[7]에 의하여 제시된 수치로 밝혀지고 있다. Roberts에 의하여 제시된 a값과 K값은 DA가 80% 전후로 유지되고 있는 chitosan에서만 적절하게 적용될 수 있으며 그 이외의 DA에서는 분자량 측정이 올바르게 이루어질 수 없음을 Wang도 지적한 바 있다.

Hwang[8]과 그의 공동연구자들은 Mark-Houwink-Sakurada식, $[\eta]=KM^a$ 에 의거하여 chitosan의 분자량을 측정하고 있다. Hwang은 a값과 K값을 각각 1.26, 3.04×10^5 으로 제시하고 있으며 그 근거로서 Roberts의 논문[7]을 제시하고 있다. 그러나 Roberts의 논문에서는 분자량 48,000~630,000 범위, DA 80%에 해당하는 chitosan을 이용하여 a값과 K값을 측정하였으며 Roberts가 제시하고 있는 a값과 K값은 각각 0.93, 1.81×10^3 이다. Hwang이 Roberts의 논문에서 인용하고 있다는 a값과 K값이 실제 논문에서 제시되고 있는 a값, K값과 서로 다르게 나타나고 있음이 확인되고 있다. Hwang의 논문에서 얻어

지고 있는 chitosan들은 DA가 67.3%~95.7% 범위로 광범위하게 변화되고 있다. Roberts에 의하여 제시된 a값과 K값이 DA가 80%인 chitosan에 대해서만 효율적인 chitosan의 분자량을 알려줄 수 있을 뿐, 그 이외의 DA에서는 정확한 분자량이 얻어질 수 없다는 사실을 감안할 때, Hwang이 측정한 chitosan 분자량의 정확도가 어느 정도인지 알 수 없다. 더구나 Hwang은 a값과 K값을 각각 1.26과 3.04×10^{-5} 으로 적용하고 있는데 이러한 값의 적용이 분자량의 신뢰도에 어느 정도 기여하고 있는지 고려해야 될 것으로 사료된다.

Kuroiwa[9]는 분자량 370,000, DA 100%인 chitosan의 분자량 측정에서 Wang에 의하여 제시된 a값과 K값을 적용시켰다고 하나 그 구체적인 수치는 제시하지 않고 있다. 그러나 Kuroiwa는 chitosan의 DA에 따라서 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값이 차별화되어 적용되어야만 함을 주지하고 있는 것으로 판단된다.

Desbrieres[10]는 Rinaudo[11]가 제시하였던 Mark-Houwink parameter에 의하여 chitosan의 점도평균 분자량을 구하여 193,000을 얻었다. 그러나 Rinaudo의 parameter에 chitosan의 DA변화에 따른 보정이 고려되고 있는지 살펴볼 필요가 있다.

Ashmore[12]는 DA가 서로 다른 chitosan들의 분자량 측정에서 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값으로 DA의 함수로 표시되는 다음의 식을 적용하였다.

$$a = -1.02 \times 10^{-2} \times (DA) + 1.82$$

$$K = 1.64 \times 10^{-30} (DA)^{14.0}$$

상기의 식은 Wang에 의하여 DA의 함수로서 표시되는 a값과 K값이다. 결과적으로 Ashmore는 a값과 K값의 설정에서 chitosan의 DA 차이에 따른 특이성을 인정하고 있다.

chitosan의 DA 크기가 변화됨에 따라서 Mark-Houwink 식의 a값이 변화될 수 있음을 Schatz[13]도 지적하고 있다. Schatz는 viscometry와 light

scattering이 chitosan의 거동을 연구하기에 가장 바람직한 방법이라고 지적하면서 시료 chitosan의 용해성 여부가 가장 중요하다고 강조하고 있다. viscometry나 light scattering에서는 완벽한 용해성이 충족되는 chitosan 시료가 요구되는데, 현재 상업적으로 시판되고 있는 chitosan들은 제반 충족요건들을 충족시키지 못하고 있음을 지적하고 있다. Schatz의 상기와 같은 지적으로부터 현재 시판되고 있는 chitosan들은 viscometry나 light scattering으로부터 신뢰할 수 있을 정도로 제반 특성들이 계측될 수 없다는 사실이 증명되고 있다. Schatz의 실험결과 DA가 상승되어감에 따라서 refractive index increment, radius of gyration, second virial coefficient, intrinsic viscosity가 상승된다는 사실이 발견되었다. 또한 DA가 낮아질수록 Mark-Houwink 식에서의 a값이 상승되는데 그 근본적인 이유로서 acetylamino group이 chitosan chain의 stiffness를 증가시키기 때문으로 결론지었다. Schatz가 지적하고 있는 것처럼 DA가 낮아질수록 a값이 상승되고 있다는 사실은 Mark-Houwink 식에서의 a값은 DA에 관계없이 일정하게 유지되지 않고 DA의 변화에 따라서 a값이 변화되고 있음을 의미하는 것이다. 결국 앞서 언급되었던 바와 같이 DA의 크기를 고려치 않고 고정된 a값과 K값으로 Mark-Houwink 식에 의하여 chitosan의 분자량을 측정하는 것은 많은 문제점이 내포되어 있다.

Yoksan[14]은 DA가 81.8%에 해당하는 chitosan의 분자량 측정에서 a값과 K값을 다음과 같이 제시하였다.

$$a = 0.9856, K = 9.849 \times 10^4$$

Yoksan은 Wang에 의하여 유도된 a값과 K값을 적용하였다고 기술하고 있는 바 chitosan의 DA 변화에 따라서 a값과 K값이 변화되고 있다는 사실을 고려하고 있다. Wang이 제시하고 있는 a값, K값과 서로 비교해본 결과 a값은 큰 문제가 없는 것으로 평가되나 K값으로 제시되고 있는 9.849×10^4 에 해당

Table 1. Mark-Houwink parameters predicted for the wormlike chain model from GPC experiments

DA(%)	a	K
97~100	0.796	0.079
88	0.800	0.074
76~78	0.810	0.0695
60	0.823	0.0634
39~44	0.825	0.0574

하는 값은 잘못 기술되었을 가능성이 매우 큰 것으로 사료된다.

Kuroiwa[15]은 DA가 98%인 chitosan의 분자량 측정에서 Wang에 의한 a값과 K값을 적용하고 있다.

Rinaudo[16]는 DA가 100%인 chitosan을 acetylation 시켜서 분자량의 크기는 동일하나 DA의 크기가 서로 다른 chitosan들을 제조하였다. DA가 상이한 여러 종류의 chitosan들의 GPC 측정결과를 토대로 wormlike chain model에 대하여 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값을 예측하였다. DA의 변화에 따른 a값과 K값의 변화를 다음의 Table 1에 제시하였다.

Table 1의 결과를 살펴볼 때 DA의 변화가 a값과 K값의 변화에 영향을 미치지 못하고 있음을 볼 수 있다. 이론적인 예측결과인 Table 1에 따라 Rinaudo는 고유점도와 분자량간의 관계에서 DA가 관여하지 않는 것으로 결론지었다.

상기의 결론은 Mark-Houwink 식에서 chitosan의 DA 변화가 a값과 K값의 변화에 영향을 미치지 않고 있음을 의미한다. 그러나 Rinaudo의 예측은 그 자신이 확인하였던 바와 같이 실험결과와 많은 차이점을 보여주고 있음이 밝혀졌다. 구체적으로는 Rinaudo가 예측하여 설정한 a값과 K값을 적용하여 Mark-Houwink 식에 의하여 구해진 Mv값과 실제 GPC에 의하여 측정된 Mw를 서로 비교할 때 많은 시료에서 큰 오차가 발생되고 있음이 확인되었다. Mv값에 비해서 Mw값이 2배 이상 큰 경우도 다수 발견되고 있다. 결국 Rinaudo가 이론적으로 유도해 낸 a값과 K값이 분자량의 측정에서 문제가 발생되고 있다고 보아도 무방할 듯하다. 앞의 Table 1에서 보았듯이 Rinaudo에 의하면 a값과 K값은 chitosan

의 DA에 거의 무관하게 작용하고 있는데 이러한 현상이 분자량 측정에서 큰 오차를 유발시키고 있는 것으로 사료된다. 반면 Rinaudo는 Mv와 Mw간의 차이가 큰 시료의 경우는 chitosan의 용해성 문제로 설명하고 있으나 이에 대한 신빙성은 더욱 검토가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

Kasaai[17]는 Mw가 35,000~2,200,000 범위, DA가 74~80% 범위에 해당하는 chitosan들에 대하여 Mark-Houwink-Sakurada식에서의 a값과 K값을 결정하였다. Kasaai는 chitosan들의 polydispersity factor인 qMHS=0.95를 도입하여 다음의 식을 유도하였다.

$$[\eta] = 1.57 \times 10^{-4} Mv^{0.79} = 1.57 \times 10^{-4} qMHS Mw^{0.79} \\ = 1.49 \times 10^{-4} Mw^{0.79}$$

Kasaai는 최종적으로 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값은 서로 반대의 크기를 가지며 DA/(pH · μ)에 의존(μ는 ionic strength)하는 것으로 결론지었다. Kasaai가 유도해낸 식에 의하면 a값과 K값이 DA에 의하여 좌우되고 있다는 사실이 명백해지고 있다. 그러나 Kasaai가 유도해낸 a값과 K값은 Wang이 유도해낸 a값, K값과 큰 차이를 보여주고 있다는 사실은 중요한 의미를 갖는다.

Wang의 결과에서는 DA에 따른 a값과 K값은 다음과 같이 측정되었다.

$$DA \ 69\%, \ a = 1.12, \ K = 0.104 \times 10^{-3}$$

$$DA \ 84\%, \ a = 0.96, \ K = 1.424 \times 10^{-3}$$

$$DA \ 100\%, \ a = 0.81, \ K = 16.80 \times 10^{-3}$$

Kasaai의 측정에서는 DA가 74~80% 범위로 유지되는 chitosan이 사용되었으므로 상기 Wang의 결과에 의거하여 예측되는 a값과 K값의 범위는 대략 $0.104 \times 10^{-3} < K < 1.424 \times 10^{-3}$, $0.96 < a < 1.12$ 의 관계가 성립되어야 마땅하다. 그러나 Kasaai에 의하여 측정된 a값과 K값은 상기의 추측되는 범위 내에 존재치 않고 있음을 알 수 있다. Kasaai에 의하여 얻어진 a값과 K값은 Wang의 결과에 의거한다면 DA가 100%에 해당하는 chitosan에 근접하고 있

음을 볼 수 있다. Kasaai가 측정한 수치와 Wang에 의한 수치간에 심각한 차이가 발생하고 있으며 어느 쪽에서인가 오류가 발생하고 있다는 추측도 배제할 수 없다.

지금까지의 논의에서 보았듯이 고유점도와 Mark-Houwink 식에 의거하여 chitosan의 분자량을 구하는 과정에서 chitosan의 DA가 변화되면 a값과 K값도 달라지게 되므로 몇몇 연구자들은 chitosan의 DA를 먼저 확인한 다음 아래에 제시되는 Wang의 a, K값에 대한 보정식에 의거하여 분자량을 계산하였다.

$$a = -1.02 \times 10^{-2}(DA)+1.82$$

$$K = 1.64 \times 10^{-30}(DA)^{14.0}$$

물론 Wang에 의하여 유도된 a, K값에 대한 보정식에서 아무런 문제가 없다면 얻어지는 분자량의 크기는 정확할 것으로 예상된다. 그러나 만약 Wang에 의하여 결정된 a값과 K값에서 문제점이 발견된다면 얻어지는 분자량의 크기는 정확성이 결여될 수밖에 없다.

Kasaai와 Wang간에 a값과 K값에서 심각한 차이를 보여주고 있다는 사실로부터 Wang에 의하여 설정된 a값과 K값에 대하여 문제점을 제기해 보는 것도 의미있는 일로 생각된다. 우선 a값에 대하여 살펴볼 때 Wang의 측정에 의하면 chitosan의 DA가 증가될수록 a값이 감소되어 가는 현상을 다음과 같이 설명하고 있다.

“DA가 상승되면 산수용액에 용해되어 있는 chitosan chain의 rigidity가 감소된다. 그 이유는 DA가 상승됨으로써 chitosan 분자간 또는 분자내 수소결합의 형성이 저하되어 분자쇄의 rotation이 촉진되기 때문이다. 또한 부피가 큰 acetylamino기가 부피가 작은 amino기로 변환되어 rotation hindrance도 감소된다.”

그러나 Chen[18]의 결과와 서로 비교하면 산수용액 내에서 수소결합의 파괴에 따른 a값의 증감효과가 서로 반대로 나타나고 있음을 볼 수 있다. Chen은 Mark-Houwink 식에 의거하여 a값과 K값을 측

정하기 위한 chitosan의 점도측정 시 chitosan이 용해되어 있는 산수용액에 urea를 첨가하여 chitosan 분자쇄간에 작용하고 있는 수소결합을 감소시키고 있다. Chen에 의하면 urea의 첨가량을 서서히 증가시켜서 수소결합의 파괴가 상승될수록 a값이 오히려 서서히 증가되고 있다고 기술하고 있다. chitosan 분자쇄의 수소결합 파괴에 따른 a값의 변화가 서로 정반대로 나타나고 있음을 볼 수 있다.

본 투고자에 의한 지금까지의 연구결과와 최근 발표된 논문들을 종합하여 볼 때 Wang에 의하여 측정된 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값은 다음과 같은 문제점들이 제기될 수 있음이 발견되었다.

1) Wang의 측정에서 DA가 69%로 매우 낮게 유지되고 있는 chitosan에서 a값이 1을 넘고 있을 뿐만 아니라 무려 1.12 정도로 높게 상승되고 있다는 사실은 chitosan의 용해성 측면에서 볼 때 매우 이례적이다. 일반적으로 DA가 70% 이하로 낮게 유지되는 경우는 DA가 90% 이상으로 높게 유지되고 있는 고탄아세틸화도 chitosan들에 비해서 상대적으로 amino기의 함량이 낮아지기 때문에 용해성이 급격히 저하될 수밖에 없다. chitosan의 산수용액에서의 용해현상이 amino기의 $-NH_3^+$ 양이온으로의 변환이므로 앞선 지적은 더 언급할 여지가 없다. 더구나 DA가 69% 정도로 낮게 유지되는 경우는 acetylamino기에 의한 수소결합이 촉진되기 때문에 용해성이 저하되는 것은 당연하며 chitosan 분자쇄의 rigidity도 증가될 수밖에 없다. chitin과 chitosan이 산수용액에 의한 용해성 여부로 구분되듯이 chitosan에서의 DA는 용해현상을 좌우하는 가장 중요한 인자이다.

앞에서 Chen은 chitosan이 용해된 산수용액에 urea를 첨가하면 chitosan 분자쇄간의 수소결합이 파괴되고 그 결과 a값이 증가되고 있음을 지적하였다. 더구나 DA가 일정하게 유지되고 있는 chitosan에서 urea의 첨가량이 증가될수록 a값이 증가되어감을 밝히고 있다.

Chen의 결과는 chitosan 분자쇄간의 수소결합이 파괴되어 chitosan 분자쇄의 rigidity가 저하될수록 a

값이 증가됨을 의미한다. 반면 Wang의 결과에서는 DA가 낮아질수록, 즉 chitosan 분자쇄간의 수소결합이 증가될수록 a값이 증가되어 가고 있음을 볼 수 있다. Chen과 Wang의 결과가 서로 정반대지만 chitosan의 용해성 측면에서 볼 때 Chen의 지적이 더욱 합당한 것으로 판단된다. Mark-Houwink 식에서의 a값에 대하여 Wang은 chitosan 분자쇄의 rigidity와 관련된 conformation factor로 보았는데 물론 합당한 논리이다. 고분자가 용해되었을 때 a값에 따라서 고유한 conformation 상태가 대략 다음과 같이 알려져 있다.

$a < 0.5$ spheres

$0.5 < a < 0.8$ random coil

$0.8 < a < 1.0$ inherently stiff

$a > 1$ rod, highly extended chains

Wang에 의하면 DA가 69%인 chitosan에서 a값이 1.12이므로 용해상태에서 random coil 상태를 넘어서서 highly extended chain 상태를 유지하고 있는 것으로 볼 수 있다. 그러나 DA가 69% 정도의 chitosan에서는 용해가 매우 어렵다는 사실을 감안할 때 과연 random coil 상태를 넘어서서 highly extended chain 상태가 유지될 수 있을지 의심스럽다. 또한 Chen의 실험에서도 분자량이 78,000~914,000 범위로 유지되고 DA가 83%인 chitosan이 산수용액에 용해되었을 때 수소결합을 파괴시키기 위하여 urea를 6 mole까지 과다히 첨가하여도 a값이 최대 1 정도밖에 도달되지 못하고 있다.

참고로 본 투고자의 일부 실험결과에 의하면[19] DA 100%, Mw 800,000 정도의 chitosan을 초산수용액에 용해시킨 상태에서 여러 특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

$a = 0.513$, $\log K = -1.819$,

radius of gyration 71.23,

hydrodynamic radius 54.78

DA가 100%로 높게 유지되고 있는 chitosan이라

할지라도 분자량이 커지는 경우는 a값이 현저히 작아질 수밖에 없으며 random coil 상태도 유지되기 어렵다는 사실이 밝혀지고 있다. 결과적으로 Wang의 측정에서 DA가 낮아질수록 산수용액 내에서 용해된 chitosan의 conformation이 highly extended chain 상태로 변환된다는 지적은 더욱 많은 인자들을 추가하여 다시 한번 면밀히 검토되어야 될 사항으로 판단된다.

또한 a값은 conformation의 평기수단으로만 사용되지 않고 chitosan의 분자량과 관련시켜 chitosan의 용해상태를 가늠할 수 있는 일종의 solubility parameter로 사용될 수 있다는 점도 고려되어야 할 것이다.

2) DA가 서로 다른 chitosan들에 대하여 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값을 구하는 과정에서 Wang의 실험절차에서 발생될 수 있는 또 다른 문제점을 고려해볼 필요성이 있다. Wang은 우선 DA가 서로 다른, 분자량이 937,000~2,510,000 범위로 유지되고 있는 극도로 분자량이 큰 chitosan 4종을 제조하였다. 다음 이들을 ultrasonic method를 이용하여 분자량을 저하시켜서 고유점도 측정에 사용하였다. 고유점도 측정에 사용되었던 chitosan들의 특성을 Table 2에 제시하였다.

상기의 Table 2에서 보듯이 DA가 69%로 유지되는 chitosan의 경우는 분자량이 477,000에서 2,510,000 범위에 이르는 분자량범위가 광범위한 chitosan이 사용되고 있음을 볼 수 있다. 물론 각 분자량의 크기는 light scattering method에 의하여 구해졌으므로 그 정확성을 의심하기는 어렵다. 그러나 DA가 69% 정도로 현저히 낮아졌을 때 분자량이 2,500,000 정도로서 거대한 분자량이 유지되고 있는 chitosan에 대한 초산수용액 속에서의 용해성에 대하여 고려해볼 필요성이 있다.

앞에서 이미 언급된 바 있지만 DA가 100%로 유지되는 경우라 할지라도 Mw가 800,000 정도까지 상승되면 산수용액에 의한 용해성이 현저히 저하되고 있으므로 고유점도의 측정에서 분자량이 1,000,000 이상으로 유지되는 chitosan은 바람직하지 않은 것

Table 2. Results measured for four series of chitosan samples

DA(%)	dn/dc(ml/g)	Mw				
		69	0.175	2,510,000	1,820,000	1,430,000
84	0.189	1,850,000	1,570,000	1,130,000	926,000	536,000
91	0.194	1,260,000	1,080,000	586,000	376,000	211,000
100	0.208	937,000	551,000	446,000	269,000	194,000

으로 평가된다. 또한 분자량의 크기가 너무 작아지는 경우는 light scattering에 의한 분자량 측정이 부정확해질 수 있으므로 분자량이 너무 작게 조절된 chitosan은 점도측정에 사용치 않는 것이 유리하다.

이상적인 Mark-Houwink 식에 의거한다면 점도와 Mw간에는 점도측정에 사용된 몇 종류의 chitosan 들에서 완전한 직선성이 유지되어야만 한다. 그러나 Bohdanecky[20]는 특정하게 한정된 분자량 범위에서만 직선성이 성립되며 적정 분자량 범위를 벗어나게 되면 직선성에서 벗어나게 됨을 지적한 바 있다. 이는 고유점도의 측정에서 분자량의 크기가 너무 작거나 또는 너무 커지지 않도록 적정분자량 범위로 한정된 상태에서의 고유점도 측정의 필요성을 암시하고 있는 것이라 판단된다.

적정분자량 범위를 벗어나게 될 때 직선성이 파괴되는 현상을 Chen[21]은 분자량의 크기에 따라서 기인되어지는 특별한 작용으로 규정짓고 molecular weight-induced conformational change라고 명명하였다. Chen은 chitosan의 경우 대략 분자량 200,000 근처를 전후하여 직선성에서 벗어나게 됨을 발견하였다. 본 투고자가 앞에서 언급하였듯이 DA가 100%로 유지된다 할지라도 분자량이 800,000 정도로 상승되면 Mark-Houwink 식에서의 a값이 0.5 정도로 급격히 낮아지는 이유도 바로 chitosan의 분자량 크기가 일정 크기 이상으로 상승되면서 기인되는 특별한 conformation의 발현으로 해석될 수 있을 것이다.

앞서 Chen의 발견에 의하면 DA가 83% 정도로 유지되는 chitosan에서는 urea를 2 mole 이상 첨가하여 분자쇄간의 수소결합을 파괴시켜도 대략 분자량 223,000 부근에서 직선성의 유지가 깨어지기 시작하였다. 이는 chitosan의 분자량이 대략 20~30만

정도에 도달되어도 molecular weight-induced conformational change가 작용하여 Mark-Houwink 식에서 a값의 정확한 측정이 불가능해진다는 사실을 암시하고 있는 것이다.

고유점도 측정에서 Wang이 사용하였던 chitosan 들을 살펴보면 Chen이 제시하였던 분자량 범위에 비해서 과다히 크다는 사실을 알 수 있다. DA 69%의 chitosan에서는 고유점도 측정에 사용된 분자량이 서로 다른 5종류의 chitosan 중에서 4종류가 70만을 넘고 있으며 2종류는 200만에 근접되고 있다는 것을 Table 2에서 확인할 수 있다. DA 84%의 chitosan에서도 3종류가 100만 이상을 초과하고 있다. 다만 DA 100%인 chitosan에서는 5종류 전부 100만 이하로 유지되고 있다. 결과적으로 고유점도 측정에서 분자량이 과다히 큰 chitosan이 사용된 DA 69%, DA 84%, DA 91%에서의 a값과 K값에 대한 신뢰도가 저하될 것으로 추측된다. 그러나 DA 100%에서는 DA 69%, DA 84%, DA 91%에서 점도측정에 사용되었던 chitosan에 비해서 분자량이 과다히 크지 않기 때문에 구해지는 a값과 K값은 molecular weight-induced conformational change의 영향을 비교적 적게 받을 것으로 기대된다.

또한 결과적으로 보아도 DA 100%에서는 a값이 0.81로 유지되고 있어 random coil 상태를 유지하고 있는 것으로 판정되며 이제까지 기 발표된 수치들과 비교할 때 비정상적인 것으로 판단되지 않는다.

마지막으로 본 투고자는 Mark-Houwink 식에 의거하여 Wang에 의하여 이루어진 a값과 K값의 결정방식에 대하여 논의하고자 한다. 우선 DA 69%인 경우 Wang은 분자량의 크기에 따라서 측정된 점도값들을 plot하는 과정에서 가장 작은 분자량

477,000에 해당하는 점도와 가장 큰 분자량 2,510,000에 해당하는 점도를 서로 연결함으로써 그 이외의 분자량에 해당하는 점도들도 직선 안에 포함되는 것을 강조하였다. 결과적으로 DA 69%에 해당하는 가장 작은 분자량의 점도와 가장 큰 분자량의 점도를 서로 연결함으로써 직선성을 강조하여 1.12에 해당하는 a 값을 얻었다. 그러나 plot를 면밀히 살펴보면 분자량 1,400,000에 해당하는 점도가 직선성에서 벗어나고 있음이 확인된다. 분자량 1,400,000에 해당하는 점도가 직선에서 벗어나고 있다는 사실은 DA 69%인 chitosan에서 분자량이 1,000,000을 초과하여 과다히 상승됨에 따라 molecular weight-induced conformational change가 유발되었을 가능성을 암시하고 있는 것이다. Wang이 행하였던 plot방식과 달리 분자량이 과다히 큰 1,820,000과 2,510,000에서의 점도를 제외하고 분자량 477,000, 717,000, 1,430,000에 해당하는 점도 값들로 직선성을 성립시키면 a 값이 대략 0.84~0.87 범위로 나타나게 된다.

DA 69%인 chitosan에서 a 값이 0.84~0.87 범위로 유지된다면 random coil에 근접된 상태가 유지된다고 볼 수 있으며 Wang이 유도한 $a=1.12$ 에 의한 conformation인 rod형이나 highly extended chain으로부터 벗어나고 있다. DA가 69%로 낮게 유지되는 chitosan은 용해성이 매우 낮고 acetylamino기에 의한 수소결합이 크게 작용하고 있다는 점을 감안할 때 0.84~0.87에 해당하는 값도 비교적 큰 값으로 평가될 수 있다.

이제까지 보았듯이 Mark-Houwink 식에 의거하여 a 값과 K 값을 구할 때에는 고유점도 측정에 사용되는 chitosan에서 적정분자량 범위가 존재하고 있는 것으로 추측된다.

분자량이 너무 커지는 경우는 분자량 증가에 따른 특이한 conformation(DA가 높고 양용매가 가해져도 용해성이 극도로 낮아지거나 random coil 형태를 이루기 어려운 conformation이 성립되는 경우)이 성립되어 점도값들을 plot할 때 직선성에서 벗어

나게 되는 것으로 사료된다. 역시 chitosan의 분자량이 너무 작아져도 특이한 conformation(분자량의 크기에 거의 영향을 받지 않고 highly extended chain이 형성되는 경우)이 촉진되어 rod형이 유지되고 그 결과 a 값이 1 이상으로 과다히 상승되는 것으로 판단된다. 고유점도를 측정하고 그 결과를 Mark-Houwink 식에 적용하여 chitosan의 분자량을 측정하는 방법은 다수의 문제점이 내포되어 있으므로 그 적용이 신중하게 이루어져야 할 것이다.

3. Chitosan의 분자량 조절과정에서 유발되는 변성현상에 대하여

앞에서 우리는 chitosan 분자량 측정의 중요성에 대하여 논의한 바 있다. 분자량 측정이 중요하게 인식되는 근본적인 이유는 chitosan의 분자량 크기가 절대적으로 중요한 요소이기 때문일 것이다. 물론 대부분의 고분자화합물에서 분자량의 크기는 화합물의 특성을 결정짓는 가장 중요한 인자임에 틀림없으나 특히 chitosan에서는 분자량의 크기가 chitosan 자체의 물리적 특성뿐만 아니라 여러 기능을 결정적으로 좌우하기 때문이다.

chitosan은 갑각으로부터 추출될 때 HCl과 NaOH와 같은 강산, 강염기와 접촉되기 때문에 제조과정에서 분자쇄가 절단될 가능성이 매우 크다. 특히 DA가 높은 chitosan을 얻기 위하여 탈아세틸화 반응조건을 격렬하게 도입하면 분자량이 매우 낮아지며 분자량분포가 넓은 chitosan밖에 얻을 수 없다.

chitosan 연구의 초창기에는 타의적으로 분자량이 저하되지 않은 상태 즉 고분자량의 chitosan을 얻려는 연구가 성행하였다. 그러나 고분자량의 chitosan은 산수용액에 의해서도 용해가 어려우며 pK_a 가 낮기 때문에 첨가물로 첨가되는 경우 침전이 유발되는 경우가 많았다. chitosan의 기능성에 관한 연구 과정에서 기능성의 발현여부가 분자량의 크기에 의하여 크게 좌우된다는 사실이 발견되면서 분자량을 특정 목적에 적합하도록 조절하기 위한 연구가 수

행되고 있다. chitosan의 분자량 조절은 합성고분자에서와 달리 많은 어려운 문제점들이 대두되고 있다. chitosan에서는 분자량이 큰 출발 고분자량 chitosan 분자쇄의 절단을 통해서만 분자량의 조절이 가능하다는 점에서 합성고분자의 분자량 조절과 차별화되고 있다.

chitosan의 분자량 조절은 대략 2가지 방법이 제시될 수 있다.

첫 번째 방법은 갑각을 HCl과 NaOH로 처리하는 과정에서 분자쇄의 절단이 유도될 수 있는 과격한 처리조건을 도입하는 방법이다. 구체적으로는 갑각을 HCl로 처리하는 과정에서 HCl의 농도, 처리시간, 처리온도 등을 조절함으로써 분자량이 서로 다른 chitin을 얻어낼 수 있다. 연이어 chitin을 탈아세틸화시키는 과정에서 40~50% 농도의 NaOH 수용액 속에서 처리조건을 조절함으로써 분자량의 조절이 어느 정도 가능하다.

그러나 상기의 방법들이 적용되는 경우는 분자쇄의 절단이 불규칙하게 일어나서 최종적으로 얻어지는 chitosan의 분자량 분포가 매우 넓어진다는 단점이 지적되고 있다. 분자량이 비교적 낮게 조절된 저분자 chitosan들은 짙은 갈색을 띠는 경우가 거의 대부분인데 이는 분자량이 매우 낮고 불안정한 성분(대략 분자량 10,000 이하)이 다량 함유되기 때문이다. 지금까지 제시되었던 방법에서 단 한가지 긍정적인 측면이 있다면 탈아세틸화 반응조건을 격렬하게 유지시킴으로써 분자량이 현저히 낮으면서 DA가 높은 저분자화 chitosan이 얻어질 수 있다는 점이다. 탈아세틸화 반응을 격렬하게 도입시키면 탈아세틸화 반응의 촉진과 함께 분자쇄의 절단도 촉진되기 때문이다. 그러나 이 방법은 재현성이 불량하며 분자량이 현저히 낮아지는 경우에는 수득율이 낮아지기 때문에 특별한 경우를 제외하고는 사용하지 않는 것이 바람직하다.

chitosan의 분자량을 좀더 정교하게 조절할 수 있는 방법으로서 H₂O₂, NaBO₃, NaNO₂ 등의 산화제를 사용하는 방법이 제안되고 있다. 산화제를 사용

하는 방법은 여러 가지 유리한 장점들이 제시될 수 있다. H₂O₂, NaBO₃가 사용되는 경우는 불균일 반응계에서도 chitosan 분자쇄의 절단이 단시간 내에 쉽게 이루어질 뿐만 아니라 저분자화 chitosan의 회수가 극히 용이하다. 산화제의 첨가량, 반응온도, 반응시간 등을 적절히 조절함으로써 거의 정량적인 분자량의 조절이 가능하다. NaNO₂에 의한 저분자화 반응은 chitosan이 산성수용액에 용해되어 있을 때에만 저분자화 반응이 가능하며 불균일 반응계에서는 저분자화 반응이 진행되지 않는다. H₂O₂, NaBO₃에 비해서 NaNO₂에 의한 저분자화 반응은 공정이 복잡하기는 하지만 다음과 같은 장점이 연구자들에 의해서 제시되고 있다.

- ① 여타의 어떠한 산화제보다도 분자쇄 절단작용이 효율적이어서 30분 이내 또는 길어야 1시간 이내에 저분자화 반응이 완결될 수 있다. 반응 자체가 격렬하기 때문에 때에 따라서는 ice bath 속에서 반응을 진행시켜야 하는 경우도 있다.
- ② H₂O₂나 NaBO₃가 적용되었을 때보다 훨씬 낮은 분자량이 유지되는 저분자화 chitosan의 수득이 가능하다.

불균일 반응계에서 H₂O₂나 NaBO₃가 적용되는 경우는 분자량이 10,000 이하로 저하된 저분자화 chitosan을 얻었던 예는 발견되지 않고 있다. 반면 NaNO₂가 사용되는 경우는 분자량이 1,000 부근까지 저하된 저분자화 chitosan이 얻어진 예가 보고되고 있다. NaNO₂의 상대적 우수성 때문에 중성의 물에 용해가능한 수용성 chitosan의 제조법으로서 널리 적용되고 있는 실정이다.

본 투고자는 지금부터 NaNO₂를 중심으로 하는 산화제의 사용으로부터 얻어지는 저분자화 chitosan에서 부수적으로 유발되는 변성작용과 시간 경과에 따른 저분자화 chitosan의 안정성에 대하여 설명하고자 한다.

NaNO₂를 사용하는 chitosan의 저분자화 반응은 Peniston[22]에 의하여 "Process for Depolymerization

of Chitosan”으로 1975년 소개되었다. 한가지 중요한 사실은 Peniston 자신은 수용성 chitosan을 제조하기 위하여 NaNO_2 를 사용하지 않았음이 분명하다는 것이다.

그는 “deaminative cleavage of chitosan into reduced chain-length”라고 기술하고 있는 바, chitosan의 분자쇄가 절단되는 과정에서 chitosan 분자 내부에 존재하고 있는 $-\text{NH}_2$ 기가 정량적으로 소실되고 있다는 사실을 밝히고 있다. NaNO_2 에 의한 분자쇄의 절단에서는 $-\text{NH}_2$ 기 1개가 사라지면서 분자쇄가 1번 절단된다고 기술하면 제일 쉬운 표현일 것이다. 이는 분자량이 낮아질수록 $-\text{NH}_2$ 기가 상당량 소실되는 결과 변성된 저분자화 chitosan이 얻어짐을 의미한다. NaNO_2 에 의한 저분자화 반응에서 chitosan의 $-\text{NH}_2$ 기와 NaNO_2 의 mole비를 적절히 조절하여 반응시켰을 때의 예측결과는 Kuhn[23]의 식에 의하여 계산될 수 있다. “random cleavage of chain linkage”에 입각하여 Kuhn의 식에 의거하여 이론적으로 계산된 결과와 Peniston의 실험결과는 완전히 일치하고 있어서 극히 정량적으로 저분자화 반응이 진행되고 있다고 Peniston은 말하고 있다.

우리는 Peniston의 실험결과를 면밀히 검토해봄으로써 NaNO_2 를 사용하는 저분자화 반응의 장단점을 파악할 수 있다. Peniston은 USP 3,922,260, 실시예 1)에서 출발 고분자 chitosan 분자쇄의 10%를 절단시킨 저분자화 chitosan을 얻기 위하여 $-\text{NH}_2/\text{NaNO}_2 = 10/1$ (mole ratio)의 비율로 저분자화 반응을 진행시켰다. 저분자화 반응시간이 완료되었을 때 생성된 저분자화 chitosan의 회수를 위하여 반응계에 NaOH 수용액을 첨가하여 침전을 유도하였다.

출발 고분자량 chitosan은 pH 6.5에서 침전되었으나 저분자화 chitosan들은 대략 pH 7.4 부근에서 침전이 유발되었다. chitosan은 분자량이 낮아질수록 pK_a 값이 상승되므로 저분자화에 따른 pK_a 값의 상승이 설명되고 있다. 침전에 의하여 얻어지는 저분자화 chitosan의 수득율은 60%였다. 결과적으로 NaNO_2 에 의하여 분자량이 저하된 chitosan 중에서

용해성이 매우 높아지게 되어 pH 7.4에서도 침전이 이루어지지 않고 유실된 비율은 40%라고 볼 수 있다. 유실된 40%에 해당하는 저분자화 chitosan들은 분자량이 과다히 낮아지게 되고 그에 따라 pK_a 값이 현저히 상승되어 pH 7.4에서도 침전이 이루어지지 않고 소실되었다고 보는 것이 타당하다. 이들은 pH 7.4 부근에서 $-\text{NH}_3^+$ 의 양이온 상태가 완전히 파괴되지 않았을 것으로 추정된다. 수득율 60%인 불용성 저분자화 chitosan들은 출발 chitosan에 비해서 질소함량이 12%나 저하되고 있다. 이는 NaNO_2 에 의한 저분자화 반응에서 $-\text{NH}_2$ 기가 변성되고 있음을 보여주고 있을 뿐만 아니라 $-\text{NH}_2$ 기의 손실 정도, 즉 DA의 저하정도를 정량적으로 밝혀주고 있는 것이다. 질소함량의 저하가 12% 정도이므로 DA의 저하는 대략 10% 정도에 이르게 된다. 얻어진 불용성 저분자화 chitosan의 평균중합도는 측정방법에 따라서 다르기는 하지만 대략 13~14(분자량 2,093~2,254) 정도에 이르고 있다.

Peniston은 Kuhn의 식에 의거하여 저분자화 chitosan의 중합도 분포를 이론적으로 계산한 결과 분자쇄가 10% 절단되는 경우 중합도 13 이상의 비율은 60%로 계산되었으며 평균중합도는 15.5 정도로 계산되었다. 결국 상기의 결과들을 종합하면 Peniston이 저분자화 반응과정에서 회수하지 못한 40%에 해당하는 저분자화 chitosan은 중합도가 12 이하로 유지되는 분자량이 몹시 낮아진 분해물로 가정할 수 있다. 즉 분자량이 1,900 이하로 유지되는 저분자화 chitosan들은 pK_a 값이 매우 커져서 pH 7.4 상태에서도 중성의 물에 용해될 수 있을 정도의 양이온을 띄고 있음이 틀림없다.

다음에서는 기발표된 몇 가지 자료를 통하여 NaNO_2 에 의한 저분자화 결과와 몇 가지 문제점들을 살펴보기로 한다.

김[24]은 $-\text{NH}_2/\text{NaNO}_2$ 의 비율(mole ratio)을 10/5로 고정시키고 저분자화 반응을 진행시킨 다음 혼합용매로 분별침전시켜서 분자량이 서로 다른 4종류의 저분자화 chitosan을 얻고 있다. 얻어진 저분

자화 chitosan들의 Mw는 각각 5,900, 5,100, 4,100, 1,800이며 DA는 각각 33, 45, 46, 27%로 나타나고 있다. 더구나 김은 얻어지고 있는 저분자화 chitosan들이 중성의 물에 대하여 용해성을 갖는 수용성 chitosan이라고 주장하고 있다.

앞에서도 본 투고자가 누차 언급하였던 바와 같이 chitin과 chitosan의 구분은 DA의 크기에 의해서 결정되는 것으로 보는 것이 마땅하다. chitosan은 DA가 대략 60% 이상으로 유지되기 때문에 산성수용액에 용해되는 반면 chitin은 DA가 40% 이하로 낮아지기 때문에 산성수용액에 의해서도 용해될 수 없다. 김에 의하여 얻어지고 있는 수용성 저분자 chitosan들은 Mw가 1,800일 때 DA 27%, Mw가 5,900일 때 DA가 33%로 낮게 유지되고 있는데 이러한 DA값은 갑각으로부터 1차적으로 제조되는 chitin이 보여주는 DA보다도 낮은 값이다.

27~33% 범위로 DA가 유지되고 있는 chitosan에 대하여 우리는 chitosan의 고유한 특성이 발현될 수 있을지 다시 한 번 점검해볼 필요가 있다. 그러나 Peniston의 결과와 서로 비교해 보면 김에 의하여 얻어진 저분자화 chitosan들은 정상적인 조건하에서는 수용성이 유지될 수 없음이 분명하다. Peniston은 대략 중합도가 13~14(분자량 2,093~2,254) 이상으로 유지되면 중성의 물에 용해될 수 없음을 그의 특허 USP 3,922,260에서 실험결과를 근거로 분명히 밝히고 있다. 용해성을 증가시키기 위하여 분자량을 저하시킨다 할지라도 분자량이 대략 2,000 이상으로 유지되는 경우는 중성의 물에 의하여 용해될 수 없음을 지적하고 있는 것이다. Peniston이 얻은 분자량 2,000을 전후하는 저분자화 chitosan들은 DA가 대략 80~85%로 높게 유지되고 있음에도 불구하고 중성의 물에 용해되지 않는다는 사실을 감안할 때 DA가 30~40% 범위로 유지되고 분자량의 크기가 4,000~5,000 범위의 저분자화 chitosan들이 중성의 물에 용해된다는 것은 납득되기 어렵다.

별도로 본 투고자는 NaNO_2 로 저분자화시킨 chitosan으로서 Mw 5,090, DA 86.23%, Pd 1.08에

해당하는 저분자화 chitosan에 대하여 중성의 물에 대한 용해성을 조사한 결과 용해되지 않았다. 별도로 chitosanase로 분자쇄를 절단시켜서 제조한 Mw 3,390, DA 94%, Pd 1.16에 해당하는 저분자화 chitosan에서도 중성의 물에 대한 용해성은 역시 발현되지 않음을 확인하였다. 분자량이 3,000 부근까지 저해되고 DA가 94%까지 상승되어도 중성의 물에 용해되지 않은 것으로 보아 단순한 분자량의 저하만으로 중성의 물에 대한 용해성을 발현시킬 수 없다는 사실이 증명되고 있다.

지금까지 논의한 바와 같이 NaNO_2 를 사용하여 얻어지는 저분자화 chitosan들은 분자량의 저하 정도에 비례하여 심각한 DA의 저하가 유발되면서 변성이 수반되므로 최종 목적에 사용하기 전 필히 DA값을 측정하여 정확한 DA를 인지한 상태에서 사용이 이루어져야만 한다. NaNO_2 로 저분자화가 이루어진 chitosan으로서 DA가 밝혀지지 않고 사용되는 경우는 기능성의 발현효과 등 결과의 해석에서 많은 오류가 수반될 수 있다. 실제로 많은 연구논문에서 출발 고분자량 chitosan의 DA만 제시되고 있을 뿐 NaNO_2 로 저분자화된 chitosan의 DA는 제시되지 않고 있는 사례가 발견되고 있는 실정이다.

NaNO_2 를 사용하여 chitosan을 저분자화시키면서도 DA의 저하정도를 5% 이내, 더욱 바람직하게는 2~3% 범위로 낮게 유지시키는 방법이 연구되고 있는데 출발 chitosan의 특성화와 반응조건의 설정여하에 따라서 매우 우수한 결과들이 도출되고 있다[25].

NaNO_2 를 사용하면서도 DA가 가능한 한 높게 유지되는 저분자화 chitosan을 얻기 위해서는 대략 다음과 같은 사항들을 고려하면 유리할 듯하다.

1) 저분자화 반응에 사용되는 출발 고분자량 chitosan으로서 DA가 가능한 한 높은 것이 유리하다. 물론 DA가 100%로 유지된다면 가장 바람직하다.

2) Peniston을 비롯한 여러 연구자들은 NaNO_2 에 의한 저분자화 반응에서는 NaNO_2 와 $-\text{NH}_2$ 기가 1:1로 정량적으로 반응하는 것으로 설명하고 있으나 실제로는 NaNO_2 는 chitosan의 분자쇄를 절단하고 있

을 뿐만 아니라 chitosan 내부에 존재하고 있는 $-NH_2$ 기의 변성에도 직접적으로 관여하고 있다는 증거가 발견되고 있다. 결과적으로 $NaNO_2$ 에 의한 저분자화에서는 분자쇄의 절단과정에서 수반되는 deamination에 의해서 뿐만 아니라 직접적인 $-NH_2$ 기의 변성에 의해서도 DA가 저하되므로 DA 저하가 방지될 수 있는 실험조건이 검토되어야 하며

3) 저분자화 과정에서 DA의 저하에 가장 큰 영향을 미치는 인자는 $NaNO_2/-NH_2$ 의 비율(mole ratio)인데 이에 따른 저분자화 반응의 대체적인 경향은 다음과 같다.

$$NaNO_2/-NH_2 \leq 0.05$$

분자쇄의 절단이 원활치 않음(비효율적인 방법).

$$NaNO_2/-NH_2 \geq 0.3$$

분자쇄의 절단은 용이하나 DA가 현저히 저하된다. 그 결과 저분자화 chitsoan들은 분자량이 낮음에도 불구하고 용해성이 우수하지 못하다.

$$0.1 \leq NaNO_2/-NH_2 < 0.2$$

분자쇄의 절단이 용이할 뿐만 아니라 DA의 저하도 크게 유발되지 않아서 DA가 93~94%까지 유지되는 저분자화 chitosan의 수득이 가능하다.

4) $NaNO_2$, H_2O_2 , $NaBO_3$ 등의 산화제로 저분자화된 chitosan들은 저분자화 반응이 완료된 후 환원 처리 과정을 도입하여도 보존시간 경과에 따라서 착색유발, 분자량의 변화, DA의 저하, 용해성 저하 등의 변성현상이 수반되고 있다. 사용하기 직전 분자량, DA 등을 필히 다시 측정 후 사용해야만 한다.

5) 산화제의 사용에 의해서 얻어지는 저분자화 chitosan들은 분자량을 1,000~2,000 범위까지 낮게 저하시켜도 chitosan 분자 내부의 $-NH_2$ 기의 일부가 $-NH_3^+$ 상태의 양이온으로 유지되지 않는 한 중성의 물에 대한 용해성이 발현될 수 없다. 만약 중성의 물에 대한 용해성이 발현되고 있다면 용해시킨 후 alkali를 가하여 용액의 액성을 pH 10 이상

으로 상승시켰다가 투석 등을 통하여 중성이 될 때까지 세척하여 사용하는 것이 바람직하다.

다음에서는 산화제로 저분자화된 chitosan에서 시간 경과에 따른 제 2차적인 변화에 대하여 간단히 설명하고자 한다. $NaNO_2$ 로 저분자화된 chitosan에서도 물론 적용되었지만 특히 H_2O_2 나 $NaBO_3$ 로 불균일 반응계에서 저분자화된 chitosan들은 저분자화 반응이 완료된 후 일정 기간이 경과되면 분자량의 저하, DA의 저하, 용해성의 저하 등에 해당하는 변성작용이 유발된다. 저분자화에 적용되었던 고유한 반응조건, 즉 chitosan이 저분자화 과정에서 받았던 화학적 이력이 고유한 특성을 띠면서 변성에 영향을 미치게 된다. 그러므로 사용자는 변성의 특성에 대하여 주지하고 있어야 하며 실제 적용에 있어 세심한 주의를 기울여야 한다[26,27].

Table 3에 저분자화 chitosan들의 시간경과에 따른 변화를 제시하였다

Group A에서의 저분자화 chitosan들은 H_2O_2 /chitosan의 비율이 0.15로서 비교적 온화한 반응조건 하에서 저분자화가 이루어진 시료들이다. 시료 1에서는 7개월 경과 후 분자량이 무려 65,000 정도나 저하되고 있어서 분자량의 저하가 심각한 정도로 수반되고 있는 것으로 평가된다. 그러나 특이한 현상은 분자량이 저하되었음에도 불구하고 Mark-Houwink 식에서의 a값은 오히려 저하되고 있다. Mark-Houwink 식에서의 a값은 분자량이 작아지거나 용해성이 증가될수록 상승되는 경향을 보여주고 있어서 solubility parameter로 대체하여 사용하여도 무리가 없다. 시료 1에서는 7개월 경과 후 분자량이 현저히 저하되므로 a값의 상승을 기대하였으나 오히려 정반대로 a값이 감소되고 있다. 산화제의 영향으로 유발되는 분자량 저하라는 변성이 chitosan의 용해성에 오히려 불리하게 작용하고 있음이 밝혀지고 있다.

시료 2와 시료 3에서도 7개월 경과 후 분자량이 현저히 낮아지고 있지만 a값은 미미한 증가를 보여 주거나 오히려 감소하고 있어서 2차적으로 유발되는 변성이 바람직한 현상이 아니라는 사실이 증명

Table 3. Change of molecular weight(Mw) and solubility parameter(a)

sample group	sample No.	Initial		after 7 months		Depolymerization condition					
		Mw	a	Mw	a	H ₂ O (ml)	chitosan (g)	H ₂ O ₂ (ml)	reaction temp (°C)	reaction time (hr)	H ₂ O ₂ /chitosan (ml/g)
A	1	277,300	0.670	211,600	0.616	1,500	67	10	30	6.5	0.15
	2	151,100	0.696	95,700	0.719				40		
	3	121,700	0.711	85,900	0.689				45		
	4	82,100	0.742	80,100	0.733				50		
B	5	219,800	0.667	135,800	0.728	1,500	40	20	30	6.5	0.50
	6	98,700	0.737	72,300	0.770				40		
	7	54,300	0.833	47,400	0.882				50		
C	8	62,100	0.859	48,600	0.888	1,500	40	15	50	6.5	0.37
	9	66,300	0.848	50,700	0.743		80				0.18
	10	62,800	0.826	52,500	0.745		120				0.12
	11	57,400	0.892	46,800	0.861		80				7.5

저분자화에 사용된 출발 chitosan : Mw 5,200,000, DA 96.81%

되고 있다. Group A의 시료들로부터 분자량이 비교적 크게 저분자화된 chitosan일수록 시간경과에 따른 분자량의 저하정도가 크다는 사실을 알 수 있다.

Group C를 보면 저분자화 반응조건에 따라서 시간경과에 따른 변성의 양상이 고유하게 차별화 되고 있음을 볼 수 있다. 시료 8~시료 11에서는 반응계에 가해지는 H₂O₂의 양은 동일하지만 chitosan의 첨가량은 변화되고 있다. 시료 9와 시료 10은 시료 8에 비해서 첨가되는 chitosan의 양이 큰 편이다. 저분자화 반응에 의하여 얻어진 시료 8, 9, 10의 분자량 크기와 a값은 거의 유사하다고 볼 수 있다. 뿐만 아니라 7개월 경과 후 변성이 유발되어 저하된 분자량의 크기도 큰 차이를 보여주지 않고 있다. 그러나 7개월 경과 후 a값의 변화를 살펴보면 심각한 정도의 차이가 발생되고 있는데 이는 서로 분자량이 유사한 chitosan들이라 할지라도 용해성에서 큰 차이가 발생되고 있음을 보여주는 한 예이다.

7개월이 경과되어 분자량이 저하되므로 일반적인 상식에 의거할 때 a값이 증가되어야 마땅하다. 시료 8에서만 a값이 약간 상승되었을 뿐, 시료 9와 시료 10에서는 오히려 용해성이 0.1 정도 저하되고 있다. 분자량이 저하되고 있음에도 불구하고 a값이 감소되는 현상은 chitosan의 실제적인 사용에서 매우

불리한 현상이라 아니할 수 없다. 시료 8, 9, 10에서 7개월 경과 후 분자량의 크기만을 본다면 서로 차이가 없는 유사한 것으로 판정하겠으나 용해성에서는 큰 차이를 보여주고 있어서 기능성 측면에서 차이가 발생할 것으로 예상된다. 이와 같이 산화제로 저분자화된 chitosan들에서 시간경과에 따른 제 2차 변성은 분자량의 차이만으로 감지될 수 없는 민감한 변화이므로 실제 사용 직전에 면밀한 분석이 뒤따라야만 할 것이다.

4. Chitosan 산성염의 사용에 대하여

chitosan은 원칙적으로 중성의 물에 용해될 수 없으며 pH 4 이하의 산성수용액에 의해서 -NH₂기가 -NH₃⁺ 상태로 양이온화 되면서 용해가 이루어지게 된다. 전적으로 chitosan의 용해현상은 분자구조 내의 -NH₂기의 작용에 의해서 지배된다.

1970~1980년대, chitosan 연구의 초창기에 중성의 물에 용해될 수 있는 chitosan을 얻기 위하여 chitosan의 분자구조 내부에 친수성기를 도입시켜서 chitosan 유도체를 제조하거나 분자량이 현저히 낮아진 저분자화 chitosan을 제조하려는 연구가 유행된 적이 있었다.

O-carboxymethyl chitin, *O*-carboxymethyl chitosan,

N,O-carboxymethyl chitosan 등이 제조되었으나 엄밀한 의미에서 볼 때 이들은 chitosan이라고 볼 수 없고 단순한 chitosan 유도체에 불과하다. 본고에서는 chitosan 유도체들은 화학적인 견지에서 볼 때 chitosan이 아니므로 취급하지 않기로 한다.

수용성 chitosan이라고 하는 특수하게 제조된 chitosan에 대해서는 논란의 여지가 많으므로 수용성 chitosan에 대해서만 논의하기로 한다. 현재 수용성 chitosan에 대한 정확한 화학적인 정의는 이루어지지 않고 있으며 단지 중성의 물에 용해될 수 있는 chitosan이 수용성 chitosan으로 불리워지고 있다. 지금까지 기발표된 많은 연구결과를 살펴볼 때 정의되지 않은 수용성 chitosan으로 인하여 chitosan이 적용되었을 때의 여러 결과가 왜곡되어 온 것도 사실이다.

3~4년 전 우리나라에서는 중성의 물에 용해되는 고분자 수용성 chitosan의 제조기술이 세계 최초로 개발되었다고 보도된 바 있으며 그 우수성에 대하여 언급된 바 있다[28, 29]. 우리 나라에서 가장 권위있는 국책연구소와 언론이 보도한 내용이므로 그 진위에 대하여 이의를 제기할 필요 없이 그대로 신뢰하여도 무방할 것으로 생각된다.

그러나 기존의 화학적인 기본 상식에 의거할 때 수용성 chitosan이라 함은 다음에 제시되는 요건이 충족되어야 마땅하다.

① 수용성 chitosan이라 함은 화학적으로 충족되는 chitosan의 구조와 동일하여야 한다. 즉 원소분석시 chitosan을 구성하는 C, H, O 원소로만 구성되어야 하며 여타의 원소성분이 포함되어서는 아니 된다. 만약 C, H, O 이외의 원소가 포함되어있다면 이것은 화학적으로 chitosan이 아니고 chitosan 유도체로 보아야 할 것이다.

② 중성의 물에 용해되어야 하며 용해된 용액의 액성이 중성으로 유지되어야 할 것이다. 만약 중성의 물에 용해되기는 하지만 그 액성이 산성으로 유지되고 있다면 이는 chitosan이 아니라 chitosan 산성염이므로 chitosan으로 볼 수 없다. chitosan을 산성 수용액에 용해 시켜서 건조시킨 chitosan 산성염은

이미 오래 전부터 응집제로 사용되어 온 바 있다.

chitosan의 산성염은 염산, 젯산, 구연산 등으로 제조될 수 있다. 그러나 chitosan 산성염이 용해된 수용액의 액성을 고려할 때 가장 약산성이 유지되는 것은 염산염이다.

chitosan 염산염이 용해되면 pH 4 정도의 산성을 보여준다. 반면 구연산염은 용해되었을 때 액성이 pH 2까지 저하되는 강한 산성을 보여주게 된다. 제조된 chitosan 산성염의 화학적 안정도 측면에서 보면 구연산>젯산>염산의 순이다. 구연산염은 시간경과에 따라서 거의 변성이 유발되지 않으나 젯산염은 시간경과에 따라서 갈변이 서서히 진행되며 염산염의 경우는 HCl에 의한 심각한 산패가 진행되므로 안정성이 매우 열등하다.

고분자량의 chitosan 산성염의 경우는 중성의 물에 용해시킨 후 NaOH 수용액을 가하면 용액의 액성이 pH 7에 도달되기 이전에 대부분 침전된다. 분자량이 큰 chitosan들은 *pKa* 값이 작기 때문에 대부분 pH가 7에 도달되기 전(정확히는 6.1~6.5 범위) 침전이 유발된다. 반면 chitosan의 분자량이 대략 10,000 이하, 또는 5,000 이하로 저하되면 chitosan 산성염이라 할지라도 *pKa* 값이 커지기 때문에 pH 7 부근에서 침전이 되기 어렵다.

실험자마다 chitosan의 분자량 크기에 따른 *pKa* 값이 약간씩 서로 다르게 제시되고 있지만 한[30]의 보고에 의하면 분자량의 크기에 따른 *pKa* 값은 다음과 같이 측정되었다. 분자량의 크기가 50,000, 10,000, 3,600일 때 *pKa* 값은 각각 6.2, 6.5, 6.8로 측정되었다. 그러나 한에 의하여 측정된 *pKa* 값은 다음에 제시되는 여러 이유로 인하여 다시 한번 재고되어야 할 것으로 사료된다.

① 한은 분자량이 서로 다른 저분자화 chitosan을 제조하는 과정에서 NaNO_2 를 사용하였다. NaNO_2 가 사용되는 경우는 저분자화가 진행될수록 DA의 저하도 병행되므로 한에 의해서 얻어지고 있는 분자량이 서로 다른 저분자화 chitosan들은 DA가 서로 달라질 수밖에 없다. 특히 3,600 정도로 분자량이

현저히 낮아진 저분자화 chitosan에서는 출발 고분자량 chitosan에 비해서 DA가 10% 이상 저하되었을 것으로 추측된다. 분자량이 서로 다른 chitosan들의 pKa 값을 측정하여 비교하려면 DA 값은 서로 동일해야만 한다. chitosan의 DA 값이 pKa 에 절대적인 영향을 미치지 때문에 DA가 서로 다른 chitosan들에서 분자량 크기에 따른 pKa 의 측정과 비교는 아무런 의미가 없다. DA가 높아질수록 pKa 값이 상승된다는 점을 고려할 때 $NaNO_2$ 처리 과정에서 DA의 저하가 유발된 분자량 10,000, 3,600인 저분자화 chitosan들의 실제적인 pKa 값은 한의 측정치보다 조금 상승될 것으로 추정된다.

② 분자량이 서로 다른 3종류의 chitosan 시료를 얻기 위하여 한이 저분자화에 사용한 출발 고분자량 chitosan의 DA는 80% 정도로 제시되고 있다. 그리고 저분자화된 chitosan들의 DA는 10% 정도 저하되었음이 분명하다. 결과적으로 한이 얻어낸 pKa 값들은 DA가 70~80% 범위로 유지되고 있는 chitosan들에 해당하는 것으로서 DA가 극히 낮은 chitosan들의 pKa 값이라 할 수 있다. DA가 95% 이상, 또는 100%로 유지되는 고탄아세틸화도 chitosan에 대한 pKa 값이 측정되어야만 chitosan의 이용에 도움이 될 것이다.

단순히 분자량을 낮게 저하시킴으로써 중성의 물에 용해될 수 있는 수용성 chitosan이 얻어질 수 있다는 논리는 근본적으로 다시 검토되어야 할 사항이다. 지금까지 수용성 chitosan이라고 지칭되고 있는 chitosan들의 특성을 살펴본 결과 chitosan 분자구조 내부에 중성의 물에 용해될 수 있는 특별한 특성이 부여되었거나 고차원적인 분자구조가 충족되고 있기 때문이 아니다. 단순히 $-NH_2$ 기가 $-NH_3^+$ 상태를 유지하고 있는 산성염이기 때문에 중성의 물에 대한 용해성이 발현되는 것으로 밝혀지고 있다. chitosan이 용해되어 있는 산성수용액을 건조시켜서 고체 상태로 만들면 분자내부에 존재하고 있는 $-NH_2$ 기의 전부가 $-NH_3^+$ 의 양이온 상태로 존재하기 때문에 건조된 chitosan 산성염은 중성의 물

에 용이하게 용해되고 있는 것이다.

$-NH_2$ 기의 전부가 $-NH_3^+$ 의 양이온 상태로 존재하지 않더라도 중성의 물에 대한 용해성은 발현될 수 있다. chitosan을 산성수용액에 용해시키지 않고 고체상태에서 염산가스와 적절히 접촉시키거나 chitosan의 고체상태가 파괴되지 않는 범위 내에서 묽은 염산수용액과 접촉시켜서 $-NH_2$ 기의 일부를 $-NH_3^+$ 의 양이온 상태로 변환시킨 다음 메탄올이나 에탄올로 잔류하는 염산성분을 세척시키면 중성의 물에 대한 용해성이 발현된다. 이러한 방법으로 제조된 수용성 chitosan들은 용해되었을 때 용액의 액성이 강산성으로 유지되지 않는다. 지금까지 본 투고자에 의하여 논의되었던 chitosan의 분자량과 pKa 값간의 관계로부터 용해되었을 때 강산성이 나타나지 않고 chitosan에 부착되어 있는 산성성분이 최소화된 수용성 chitosan의 제조가 가능하다. 수용성 chitosan 표면에 부착되어 있는 염산성분을 최소화시키기 위하여 묽은 NaOH로 세척하는 방법도 적용될 수 있다.

그러나 이러한 부류의 수용성 chitosan들도 중성의 물에서 용해될 수 있는 원동력이 chitosan의 산성염에서 기인되고 있다는 사실에는 변함이 없다.

만약 chitosan 산성수용액에 alkali 수용액을 가하여 pH를 점차로 상승시켜갈 때 분자량이 큰 chitosan의 경우는 침전이 빠르게 진행된다. 이는 분자량이 커질수록 pKa 값이 작아지기 때문이다. 반면 분자량이 작아지는 경우에는 alkali가 가해져서 chitosan 산성수용액의 pH가 pKa 값에 도달되어도 즉시 침전이 유발되지 않는 경우가 허다하다.

한 가지 예를 들자면 chitosan이 용해된 산성수용액 상태에서 $NaNO_2$ 나 chitosanase 등을 사용하여 저분자화 반응을 진행시키면서 일정시간이 경과될 때마다 반응계에서 일정량의 반응물을 채취하여 alkali 용액에 적하시키는 조작을 고려할 수 있다. 저분자화 반응시간이 짧게 부여되었던 chitosan들은 alkali 수용액 내에서의 침전이 원활히 이루어지지만 저분자화 반응시간이 연장되어 일정 한계 이하로 분자량이 저하된 chitosan들은 alkali 수용액 내에서 침전이 유발되지 않

는 경우가 있다. 그러나 이러한 현상에 대하여 alkali 수용액 또는 중성의 물에 용해될 수 있는 수용성 chitosan 이 생성되었다고 결론짓는 것은 금물이다.

분자량이 현저히 낮아진 저분자화 chitosan들은 pK_a 값이 상승되기 때문에 alkali가 가해지더라도 chitosan 용액의 pH가 현저히 높게 유지되지 않는 경우에는 침전이 생성되지 않을 수 있다. 그러나 alkali를 다량 가하여 chitosan 용액의 pH를 12~14 범위까지 상승시켜서 저분자화 chitosan의 pK_a 값보다 높게 유지시키면 대부분의 경우 침전이 유발된다.

한 가지 극단적인 예를 들어보기로 한다. 저분자화 반응이 완결된 chitosan 산성수용액에 NaOH 수용액을 가하여 반응계의 pH를 12~13까지 상승시켜서 강alkali 상태를 유지시켜도 침전이 유발되지 않는 경우도 발견되고 있다. pH가 12~13으로 유지되고 있는 강alkali 상태에서 chitosan의 $-NH_2$ 기가 $-NH_3^+$ 상태를 유지할 가능성은 매우 희박하다. 상기와 같고 같이 강alkali 상태가 유지되고 있는 반응계에서 생성된 저분자화 chitosan을 회수해 내기 위해서는 우선 산과 NaOH간의 중화반응으로부터 생성된 염을 제거해야만 하며 연이어 세척을 통하여 저분자화 chitosan에 잔류될 수 있는 alkali 성분을 전부 제거해야만 한다.

정제과정에서 가장 효율적으로 사용될 수 있는 방법은 분리막을 이용하는 방법이다. 분리막을 통하여 생성된 염을 제거할 수 있으며 저분자화 chitosan의 표면에 붙어있는 alkali 성분도 세척, 제거할 수 있기 때문이다. 그러나 정제과정을 거치고 나면 pH 12~13의 alkali 영역에서도 침전이 일어나지 않던 저분자화 chitosan들이 중성의 물에 용해되지 않는 불용성으로 변화되는 경우가 허다하다. 결과적으로 중성의 물에 용해될 수 있는 수용성 chitosan의 생성여부에 대한 최종판정은 완벽한 정제가 완료된 후에 이루어져야 마땅하다.

pH 12~13에 해당하는 강alkali 영역에서도 침전이 유발되지 않다가 정제가 완료되고 난 후 중성의 물에 대하여 불용성으로 변화되는 이유는 확실치

않으나 이제까지의 실험결과를 종합해볼 때 다음과 같은 추론이 제시될 수 있다.

① 중성의 물에 대한 용해성 발현은 단순히 chitosan의 분자량을 저하시켜서 성취되는 현상이 아니며 오히려 chitosan 분자쇄의 conformation이 중요하게 작용하고 있는 듯 하다. 저분자화가 완결된 반응계에 NaOH가 가해져서 pH 12~13에 해당하는 강alkali 상태에서도 침전이 일어나지 않는 이유중의 하나로서 반응계의 중화과정에서 생성된 염의 작용도 고려될 수 있다. 반응계 내부에 생성된 염은 chitosan 분자쇄간의 수소결합을 저하시켜 용해성을 향상시키는 conformation을 유지하는 데 영향을 미칠 수 있다.

② 분리막 공정을 거쳐서 정제가 완료되고 나면 분리막 공정을 거치기 전과 분자량의 크기와 분포 상태가 크게 변화되는 이유도 용해성의 변화와 밀접한 관계가 있는 것으로 추측된다. 분리막 공정을 통하여 일정 한계 이하로 분자량의 크기가 낮게 유지되고 있는 분해물들은 제거되는데 이로 인하여 대체적으로 분자량이 큰 fraction의 비율이 상승되는 경향을 보여주게 되며 또한 solubility parameter인 a 값의 변화도 뒤따르게 된다.

저분자화 반응이 완결되고 난 후 반응계의 pH를 7~8 정도로 상승시켰을 때 침전이 생성되지 않았기 때문에 수용성이 유지되는 것으로 주장되고 있는 수용성 chitosan들은 대부분 $-NH_3^+$ 의 양이온 상태를 유지하고 있는 것으로 밝혀지고 있다. 분자구조 내에 양이온의 존재비율에서 다소 차이가 있기는 하지만 양이온의 존재가 부정될 수는 없다.

수용성 chitosan들을 중성의 물에 다시 용해시킨 다음 NaOH 수용액을 가하여 pH 12~13에 해당하는 강alkali 상태로 변환시킨 다음 분리막 공정으로 정제하여 최종적으로 건조시킨 다음 중성의 물에 대한 용해성을 조사하면 용해되지 않는 경우가 대부분이다. 결과적으로 수용성 chitosan의 수용성 발현의 원동력은 $-NH_3^+$ 의 존재로부터 기인된다고 보아도 무방하다. 수용성 chitosan으로서의 완벽한 검증이 이루어지려면 저분자화 반응이 완결된 후 반응계의 pH

를 12~13 범위까지 alkali화시켜서 $-NH_3^+$ 양이온의 존재를 완전히 제거해야만 하며 정제과정이 완료된 후 중성의 물에 대한 용해성을 검토해야만 한다.

완벽한 의미에서의 수용성 chitosan이 제조되려면 평균 분자량의 크기, DA, 분자쇄의 고차구조, 분자량이 서로 다른 분자쇄들의 조성비율 등이 종합적으로 고려되어야만 한다.

5. Chitosan 산성염이 medical 분야의 응용에서 미치는 영향

현재 식품첨가물이나 건강보조식품 분야에서는 순수한 chitosan보다 chitosan 산성염이 우수한 것으로 주장되고 있다. chitosan 산성염은 중성의 물에 대한 용해성이 높기 때문에 체내 흡수율이 높다는 논리이다. 식품산업 분야에서 꾸준히 제기되고 있는 순수한 chitosan과 chitosan 산성염간의 우위성에 대한 판단은 접어두기로 하고 medical 응용분야에서 chitosan 산성염이 사용되었을 때 나타나고 있는 몇 가지 특수한 현상을 살펴보기로 한다.

medical 응용에서 chitosan이 가장 활발히 연구되고 있는 분야는 연골재생 분야와 wound dressing 분야이다. 우선 chitosan 산성염으로 의심되는 chitosan이 사용된 예를 살펴보자.

Mori[31]는 L929 섬유아세포의 배양에서 chitin, chitosan 그리고 그들의 유도체들이 미치는 영향을 조사하였다. Mori는 chitosan, glucosamine 염산염, chitosan 6량체가 배양액에 첨가되었을 때 L929 섬유아세포의 성장이 오히려 큰 폭으로 저하된다는 사실을 발견하였으나 이에 대한 원인은 밝히지 않고 있다. 사용된 chitosan은 산성수용액 상태로 배양액에 첨가된 것으로 예상되며 chitosan 6량체와 glucosamine 염산염은 둘 다 chitosan의 염산염임이 확실하다. 상기의 3종류 chitosan들은 L929 섬유아세포의 성장을 저해시키고 있을 뿐만 아니라 첨가량이 증가되면 이에 따라서 성장억제 효과도 상승되고 있다. chitosan 산성염이 보여주고 있는 부정

적인 효과임에 틀림없다. 반면 비교적 산성도가 낮게 유지될 것으로 예상되는 chitin 단량체인 N-acetylglucosamine, chitin 6량체, chitin에서는 위의 3종류 chitosan에 비해서 L929의 성장저해가 훨씬 작게 나타나고 있다. 상기에 제시된 Mori의 실험결과는 chitosan 산성염이 사용되었을 때의 부정적인 측면을 보여주는 한 예로 판단된다.

Lu[32]는 rat knee articular cavity에 chitosan을 주사하였을 때의 효과를 조사하였다. 액성이 pH 4.5로 유지되고 있는 chitosan 수용액을 주사하였을 때 섬유아세포의 성장은 현저히 촉진되는 반면 연골은 오히려 파괴되고 있음을 발견하였다. 연골의 재생에서 섬유아세포의 성장은 오히려 방해가 된다는 점을 감안할 때 산성이 유지되는 chitosan은 바람직하지 않다는 사실이 증명되고 있다. chitosan의 산성이 강해지게 되면 관절경직증까지도 유발됨을 발견하였다. 관절에 chitosan 용액이 주사되려면 pH 6.9 정도가 유지되어야 함을 강조하고 있는데 기존의 수용성 chitosan들은 염산염 또는 젖산염으로서 pH가 6.9보다 훨씬 낮게 유지되고 있다.

Koyano[33]는 chitosan과 PVA를 혼합하여 제조된 hydrogel에서 L929 섬유아세포의 성장을 관찰하였다. hydrogel에 포함된 chitosan 함량에 비례하여 세포의 부착과 성장이 촉진되었다. 그러나 chitosan의 함량이 15%를 넘어서게 되면 성장되는 세포의 형태가 원형에서 spindle형으로 변화되고 있음을 볼 수 있다. PVA-chitosan hydrogel 위에서 L929 섬유아세포의 부착과 성장패턴, 세포의 형태변화 등은 세포와 chitosan의 $-NH_2$ 기간에 작용하는 정전기적 작용에 기인하는 것으로 보고 있다. Koyano가 주장하고 있는 정전기적 작용이 사실이라면 chitosan의 산성도가 강화되는 현상, 즉 chitosan 양이온은 세포의 성장과 형태에 불리하게 작용하고 있음이 분명하다. Koyano는 Coelho[34]와 Iio[35]의 연구결과를 인용하여 대부분의 세포는 표면이 음이온으로 하전되어 있기 때문에 산성이나 중성으로 유지되는 작용기보다는 염기성 작용기에 부착되기 용이하다

고 지적하고 있다. 강한 양이온은 세포의 형태를 변화시키거나 성장을 제한하게 된다고 말하고 있다. Koyano의 실험에서 보듯이 PVA-chitosan hydrogel에서 chitosan의 함량이 15%를 넘어서게 되면 발생하기 시작하는 세포의 형태변화도 chitosan의 하전과 관련되었을 가능성이 크다. Koyano는 PVA-chitosan hydrogel을 제조하는 과정에서 양이온을 제거하기 위하여 4% 농도의 NaOH 수용액으로 처리함으로써 chitosan 내부에 존재할 수 있는 $-NH_3^+$ 양이온의 형태를 $-NH_2$ 상태로 변환시켰다. 만약 Koyano의 실험에서 양이온의 제거가 이루어지지 않고 $-NH_3^+$ 가 그대로 유지되는 hydrogel이 섬유아세포에 적용되었다면 Mori가 얻었던 결과와 유사한 결과에 도달되었을 가능성이 크다.

chitosan 산성염이 사용되었을 때 발생할 수 있는 또 다른 문제점은 $-NH_3^+$ 양이온이 혈장 내의 단백질들과 결합할 가능성이 크기 때문에 이에 따른 부작용의 초래도 예측된다.

이상 논의한 바와 같이 medical 분야 응용에서 양이온 상태가 유지되는 chitosan이 적용되었을 때 발생할 수 있는 문제점들을 몇 가지 살펴보았다.

chitosan을 wound dressing이나 연골재생 등에 응용할 때는 우선 chitosan 자체가 산성염인지, 또는 아닌지에 대하여 명확하게 판정한 다음 사용해야만 한다. 수용성 chitosan들은 전부 산성염이므로 만약 산성염의 사용이 불가피하다면 어떠한 종류의 산으로 제조된 산성염인지를 확인해야만 한다. 구연산염에 비해서 염산염은 medical 분야 응용에서 예상치 않았던 부정적인 결과를 보여줄 수 있다.

6. 결론

지금까지 키토산의 적용에서 발생할 수 있는 문제점들에 대하여 살펴보았다.

분자량 측정의 정확도를 기하기 위하여 Mark-Houwink 식의 적용에서는 신중을 기해야 한다. 기존의 연구자들에 의하여 결정된 Mark-Houwink 식

에서의 a값과 K값은 앞으로 시간을 두고 면밀하고 체계적인 검증이 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

그러나 chitosan의 탈아세틸화도에 따라서 Mark-Houwink 식에서의 a값과 K값이 변화되고 있는 것만은 확실하므로 점도측정 전에 키토산의 정확한 탈아세틸화도가 측정되어야만 한다. 탈아세틸화도의 변화가능성이 있는 chitosan에서는 이 변화의 가능성에 대한 보정이 필요하다. 분자량의 결정에서는 점도법과 병행하여 굴절율의 변화, light scattering 결과 등을 종합하여 사용하면 오차를 줄이고 비교적 정확한 결과를 얻을 수 있다.

또한 Mark-Houwink 식에서 직선성이 유지될 수 있는 분자량의 범위가 존재하고 있다는 사실도 염두에 두어야 한다.

특히 산화제가 사용되는 chitosan의 분자량 조절 과정에서는 항상 변성이 수반된다는 사실을 고려해야만 하며 이 변성작용이 chitosan의 실제 적용에서 불리하게 작용하지 않도록 적절한 조치가 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

의용분야의 응용에서는 키토산의 순도와 더불어 산성염 여부에 대한 사전 확인이 수반되어야 할 것이다.

참고문헌

1. V. F. Lee, Diss. Abstr. *Int. B.*, **35**(7), p3275(1975).
2. Wei Wang, Shugin Bo, Shuging Li, and Wen Qui, *Int. J. Biol. Macromol.*, **13**, 281(1991).
3. D. G. Dao, *J. Food Sci. Technol.*, **30**(1), 66(1993).
4. Chia-Wen Lin and Jui-Che Lin, *Biomacromolecules*, **4**, 1691(2003).
5. Ke Liang B. Chang, Ming-Chih Tai, and Fu-Hsiang Cheng, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 4845(2001).
6. Hong Kyoon No, Shin Ho Lee, Na Young Park, and Samuel P. Meyers, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7659(2003).
7. Roberts, G. A. F. and Domszy, J. G., *Int. J. Biol. Macromol.*, **4**, 374(1982).
8. Kwon T. Hwang, Soon T. Jung, Gee D. Lee, Manjeet S. Chinnan, You S. Park, and Hyun J. Park, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 1876(2002).
9. Takashi Kuroiwa, Sosaku Ichikawa, Osamu Hiruta, Seigo Sato, and Sukekuna Mukataka, *Biotechnol. Prog.*, **18**, 969(2002).

10. J. Desbrieres, *Biomacromolecules*, 3, 342(2002).
11. Rinaudo, M., Milas, M., Le Dung, P., *Int. J. Biol. Macromol.*, 15, 281(1993).
12. Matthew Ashmore and John Hearn, *Langmuir*, 16, 4906(2000).
13. Christophe Schatz, Christophe Viton, Thierry Delair, Christian Pichot, and Alain Domard, *Biomacromolecules*, 4, 641(2003).
14. Rangrong Yoksan, Mitsuru Akashi, Siriratana Biramontri, and Suwabun Chirachanchai, *Biomacromolecules*, 2, 1038(2001).
15. Takashi Kuroiwa, Sosaku Ichikawa, Seigo Sato, and Sukekuni Mukataka, *Biotechnology and Bioengineering*, 84(1), 121(2003).
16. J. Brugnerotto, J. Desbrieres, L. Heux, K. Mazeau, and M. Rinaudo, *Macromol. Symp.*, 168, 1(2001).
17. Mohammad R. Kasaii, Joseph Arul, and Gerard Charlet, *Journal of Polymer Sci., Part B, Polymer Physics*, 38(19), 2591(2000).
18. Rong Huei Chen and Min Larng Tsaih, *J. Appl. Polymer Science*, 75(3), 452(2000).
19. Unpublished Data.
20. Bohdonecky, M. and Kovar, J. "Viscosity of Polymer Solutions", Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1982.
21. Tsaih, M. L. and Chen, R. H., *Int. J. Biol. Macromol.*, 20, 233(1997).
22. Quintin P. Peniston, *U. S. Patent* 3,922,260(1975).
23. W. Kuhn, *Ber.*, 63, 1503(1930).
24. 김천호, 이응석 외, *한국공업화학회지*, 10(1), 19(1999).
25. 고혜리. "NaNO₂에 의한 chitosan의 저분자화" 2002학년도 이화여자대학교 석사학위 청구논문.
26. 김희정, 전동원, *한국의류산업학회지*, 5(5), 520(2003).
27. 김희정, 전동원, *한국의류산업학회지*, 5(5), 529(2003).
28. 서울경제신문, "수용성 고분자 chitosan 우리 손으로 해냈다" 2000. 1. 28.
29. KIST 소식, "분리막공정을 세계 최초로 키토산 분획분리에 적용, 세계의 이목을 집중시켰다", 제 249호, 2000. 1. 28.
30. 한상문, 김용범, *한국키토산학회지*, 4(3), 142(1999).
31. Takashi Mori and Masahiro Okamura, *Biomaterials*, 18, 947(1997).
32. Jian Xi Lu and Florence Prudhommeaux, *Biomaterials*, 20, 1937(1999).
33. Tomoe Koyano and Norihiko Minour, *J. Biomed. Mater. Res.*, 39, 486(1998).
34. A. Macieira Coelho, L. Berumen, and S. Avrameas, *J. Cell. Physiol.*, 83, 379(1974).
35. K. Iio and N. Minoura, *J. Biomed. Mater. Res.*, 28, 459(1994).

저자 프로필



전 동 원

1977. 서울대학교 섬유고분자공학과(학사)
 1979. 서울대학교 섬유고분자공학과(석사)
 1983. 서울대학교 섬유고분자공학과(박사)
 1983-현재. 이화여자대학교 의류직물학과 교수
 (120-750) 서울 서대문구 대학동 11-1
 전화: 02)3277-3081, Fax: 02)3277-2852
 e-mail : saccha@ewha.ac.kr



김 종 준

1975. 서울대학교 섬유공학(학사)
 1990. North Carolina State University, College of Textiles(M.S.)
 1992. North Carolina State University, College of Textiles(Ph.D.)
 1994-현재. 이화여자대학교 의류직물학과 교수
 (120-750) 서울 서대문구 대학동 11-1
 전화: 02)3277-3102, Fax: 02)3277-2852
 e-mail : jjkim@ewha.ac.kr



전 지 혜

1999-2003. 이화여자대학교 의류직물학과 (학사)
 2002-2003. 일본 文化女子大學 교환학생
 2004-현재. 이화여자대학교 의류직물학과 직물화학전공 석사과정
 e-mail : jee-hae80@hanmail.net